



Instrukcje do ćwiczeń oraz zakres materiału realizowanego na wykładach z przedmiotu

## **Inżynieria bioprosesowa**

na kierunku

*biotechnologia*

## **Zakres materiału (zagadnienia) w ramach wykładów z przedmiotu inżynieria bioprosesowa na kierunku biotechnologia**

- Inżynieria chemiczna, procesowa i bioprosesowa – zagadnienia podstawowe
- Podstawy biochemiczne bioprosesów
- Kinetyka i modele wzrostu mikroorganizmów, typy hodowli
- Metody i kinetyka sterylizacji
- Analiza bioprosesu w bioreaktorze:
  - napowietrzanie i mieszanie
  - wymiana masy i ciepła
  - regulacja i optymalizacja procesów
  - zasady powiększania skali procesu





### Ćwiczenie nr 3

**Temat:** Wpływ warunków hodowli drobnoustrojów na ekspresję genu reporterowego

#### Część teoretyczna

1. Buforowanie podłoży mikrobiologicznych.
3. Napowietrzanie hodowli a przyrost masy hodowli.
4. Zużywanie się składników odżywczych podczas wzrostu hodowli.

#### Część praktyczna

1. Przygotować podłoże płynne LB w objętości 100 ml.
2. Przygotować w probówkach typu Falcon (50ml) podłoże płynne LB o ustalonym pH na wartościach 5,0; 6,0; 7,0; 8,0 w objętości 5 ml.
3. Przygotować trzy probówki typu Falcon (50ml) z podłożem płynne LB w objętości 5 ml.
4. Zebrać za pomocą wymazówki bakterie z genem reporterowym z hodowli stałej na płytce Petriego (pow. ok 3 x 3 cm) i zawiesić w 1 ml podłoża LB.
5. Przygotowanym inokulum bakteryjnym zaszczerpić przygotowane wcześniej podłoża płynne w stosunku objętościowym 1:100.
6. Hodowle z ustalonym pH umieścić w cieplarni z wytrząsaniem (37 °C)
7. Hodowle w pozostałych probówkach umieścić w
  - a) w cieplarni z wytrząsaniem (37 °C) – warunki tlenowe
  - b) w cieplarni z bez wytrząsania (37 °C) – warunki mikroaerofilne
  - c) w komorze gas box w cieplarni z bez wytrząsania (37 °C) – warunki beztlenowe.
8. Uzyskane hodowle przenieść w objętości 1,5 ml do probówki typu Eppendorf i zwirować (13 400 rpm, 3 min.)
9. Osad bakteryjny zawiesić w wodzie dejonizowanej i przenieść na płytkę mikrotitracyjną (czarną). Zmierzyć poziom fluorescencji przy  $\lambda = 563$  nm (dla wzbudzenia) i  $\lambda = 582$  nm (dla emisji).

Notatki

.....

.....

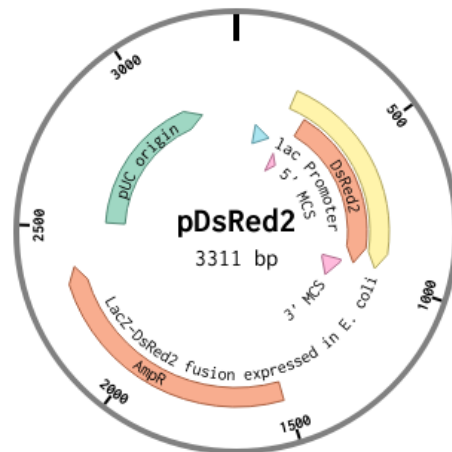
.....

.....



## Ćwiczenie nr 5

**Temat:** Wpływ ampicyliny na przyrost biomasy i poziom fluorescencji szczepów *E. coli* z wklonowanym plazmidem pDSRed2



www.benchling.com

### Część teoretyczna

1. Zastosowanie plazmidów w biotechnologii
2. Budowa plazmidu, typy plazmidów
3. Bioprocес i zasady jego kontroli z poziomu bioreaktora: pH, temperatura, pianie

### Część praktyczna

1. Przygotowanie 96 h hodowli *E. coli* z wklonowanym plazmidem pDSRed2 w LB z dodatkiem ampicyliny (grupa 1) i bez dodatku antybiotyku (grupa 2)

Pobrać kolonię *E. coli* z wklonowanym plazmidem pDSRed2 z odmłodzonej hodowli do 100 ml jałowego podłoża LB i hodować 12 h w 37°C z wytrząsaniem. Powyższym inokulum zaszczerpić bioreaktor z 2 L jałowego podłoża LB z dodatkiem lub bez ampicyliny o stężeniu 100 µg/ml (przygotowanie urządzenia na poprzednich zajęciach). Co 24 h (przez 4 dni) pobrać jałowo ok. 10 ml hodowli i określić jej zmętnienie spektrofotometrycznie (600 nm) oraz poziom fluorescencji białka RFP z wykorzystaniem czytnika Tecan.

2. Sporządzić wykresy zależności czasu hodowli od jej zmętnienia oraz poziomu fluorescencji białka RFP w obecności (grupa 1) oraz bez dodatku ampicyliny (grupa 2).
3. Omówienie wyników uzyskanych przez obie grupy – analiza porównawcza